

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 23 August 2000 (23.08.00)	
International application No. PCT/DE99/04099	Applicant's or agent's file reference PCT/MDC 9819
International filing date (day/month/year) 27 December 1999 (27.12.99)	Priority date (day/month/year) 29 December 1998 (29.12.98)
Applicant WOLFF, Gerhard et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

20 July 2000 (20.07.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Kiwa Mpay

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 11 APR 2001

WIPO

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts PCT/MDC 9819	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04099	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 27/12/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 29/12/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/86		
Anmelder MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 4 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 1 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
 - I ☒ Grundlage des Berichts
 - II ☐ Priorität
 - III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
 - VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 20/07/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 09.04.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter SCHEFFZYK, I Tel. Nr. +49 89 2399 8602 

I. Grundlag des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-4 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

12-15 ursprüngliche Fassung

1-11 eingegangen am 20/03/2001 mit Schreiben vom 20/03/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/4-4/4 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/04099

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-10
	Nein: Ansprüche	11-15: siehe SEKTION VIII/3).

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

SEKTION V-----

Der Gegenstand vorliegender Ansprüche scheint neu zu sei, denn ein Vektor gemäss Anspruch 1 wird in dem zur Verfügung stehenden Stand der Technik nicht beschrieben. Unter der Voraussetzung, dass der erfindungsgemäße Vektor tatsächlich in der Krebstherapie einsetzbar ist (siehe Sektion VIII/1.) scheint der Gegenstand vorliegender Ansprüche auch erfinderisch zu sein, denn aus den zur Verfügung stehenden Dokumenten war eine Verwendbarkeit des beanspruchten Vektors in der Krebstherapie nicht ableitbar.

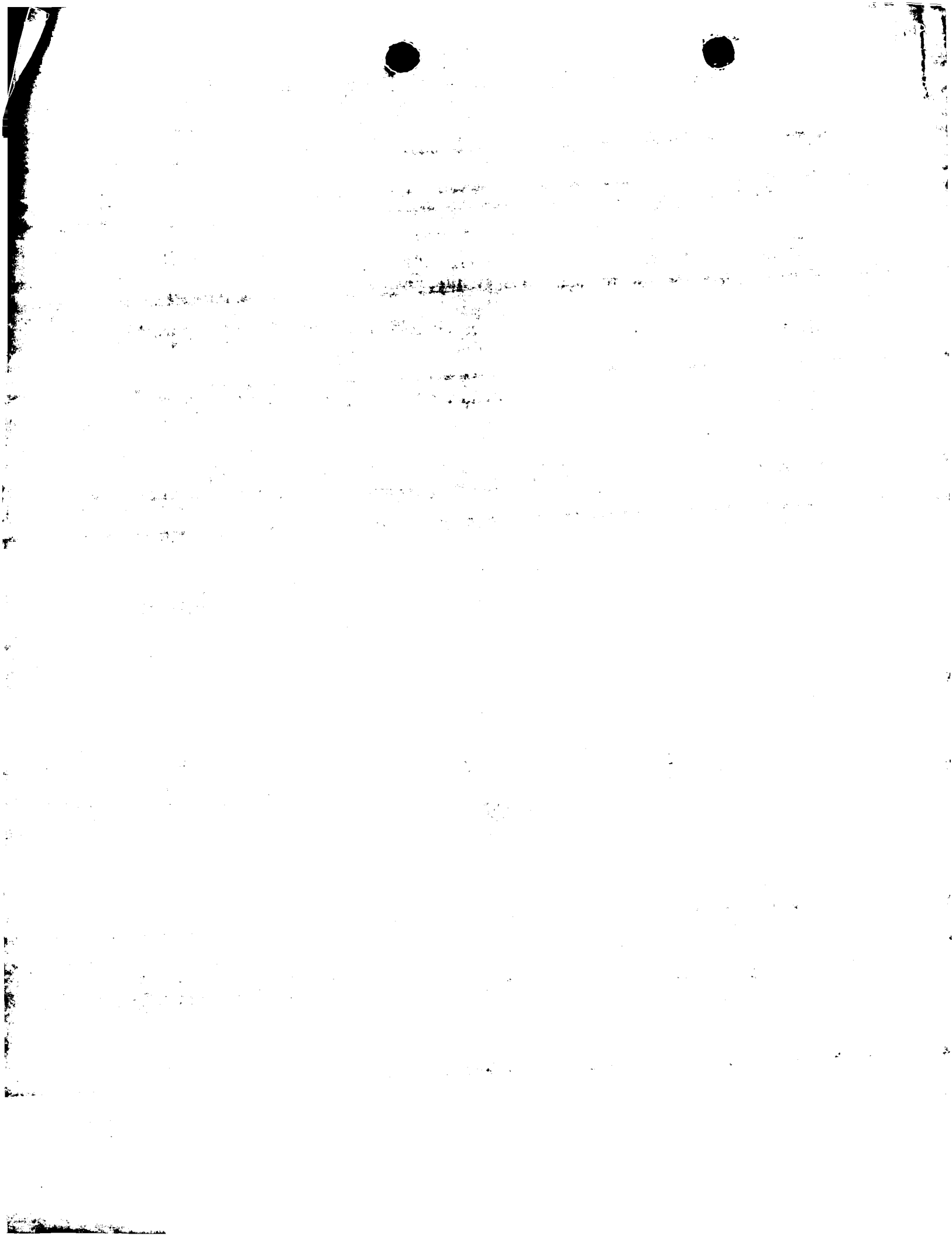
SEKTION VIII-----

- 1). Ansprüche 11-15 sind von der Beschreibung vorliegender Anmeldung nicht gestützt (Art. 6 PCT), denn die Anmeldung enthält keinerlei Daten, die auf die Verwendbarkeit des beanspruchten Vektors zur therapeutischen Behandlung (von Krebs) schliessen lassen würden (siehe auch Richtlinie C-III 6.1 und 6.3 PCT).
- 2). Die Ansprüche 11-15 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).



PATENTANSPRÜCHE

1. Gentransfervektor, bestehend aus
 - dem YB-1-Promoter,
 - einem Transgen oder der cDNA eines Transgens sowie
 - zwei zum Herausschneiden des Transgens geeigneten Multicloningsites (MCS) für Restriktionsenzyme, die das Transgen umgeben.
2. Gentransfervektor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Transgen ein therapeutisches Gen ist.
3. Gentransfervektor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Transgen ein Reportergen ist.
4. Gentransfervektor nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß das therapeutische Gen ein zellzyklusregulierendes oder ein proapoptotisches Gen ist.
5. Gentransfervektor nach Anspruch 1, 2 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß als therapeutisches Gen p16, p21, p53 oder Bax eingesetzt wird.
6. Gentransfervektor nach Anspruch 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich ein regulierendes Element in den Vektor eingebracht wird.
7. Gentransfervektor nach Anspruch 1-6, dadurch gekennzeichnet, daß die Multicloningsites (MCS) für Restriktionsenzyme mindestens 3 Restriktionsenzymchnittstellen (RES) enthalten.
8. Gentransfervektor nach Anspruch 1-7, dadurch gekennzeichnet, daß die Multicloningsites (MCS) für Restriktionsenzyme 5-10 Restriktionsenzymchnittstellen (RES) enthalten.
9. Gentransfervektor nach Anspruch 1-8, dadurch gekennzeichnet, daß die Multicloningsites (MCS) für Restriktionsenzyme keine Restriktionsenzymchnittstellen (RES) enthalten, die innerhalb der Sequenzen des YB-1-Promoters vorkommen.
10. Gentransfervektor nach Anspruch 1-9, dadurch gekennzeichnet, daß die Multicloningsites (MCS) für Restriktionsenzyme sticky-RES und blunt-RES enthalten.
11. Verwendung des Vektors nach Anspruch 1-10 zur Behandlung von Tumoren.



5000
Translation
09/869508

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PCT/MDC 9819	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE99/04099	International filing date (day/month/year) 27 December 1999 (27.12.99)	Priority date (day/month/year) 29 December 1998 (29.12.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/86, A61K 48/00, A61P 35/00, C07K 14/47		
Applicant MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>4</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>1</u> sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 20 July 2000 (20.07.00)	Date of completion of this report 09 April 2001 (09.04.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE99/04099

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.):

☐ the international application as originally filed.

☒ the description, pages 1-4, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.

☒ the claims, Nos. 12-15, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1-11, filed with the letter of 20 March 2001 (20.03.2001),
Nos. _____, filed with the letter of _____.

☐ the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

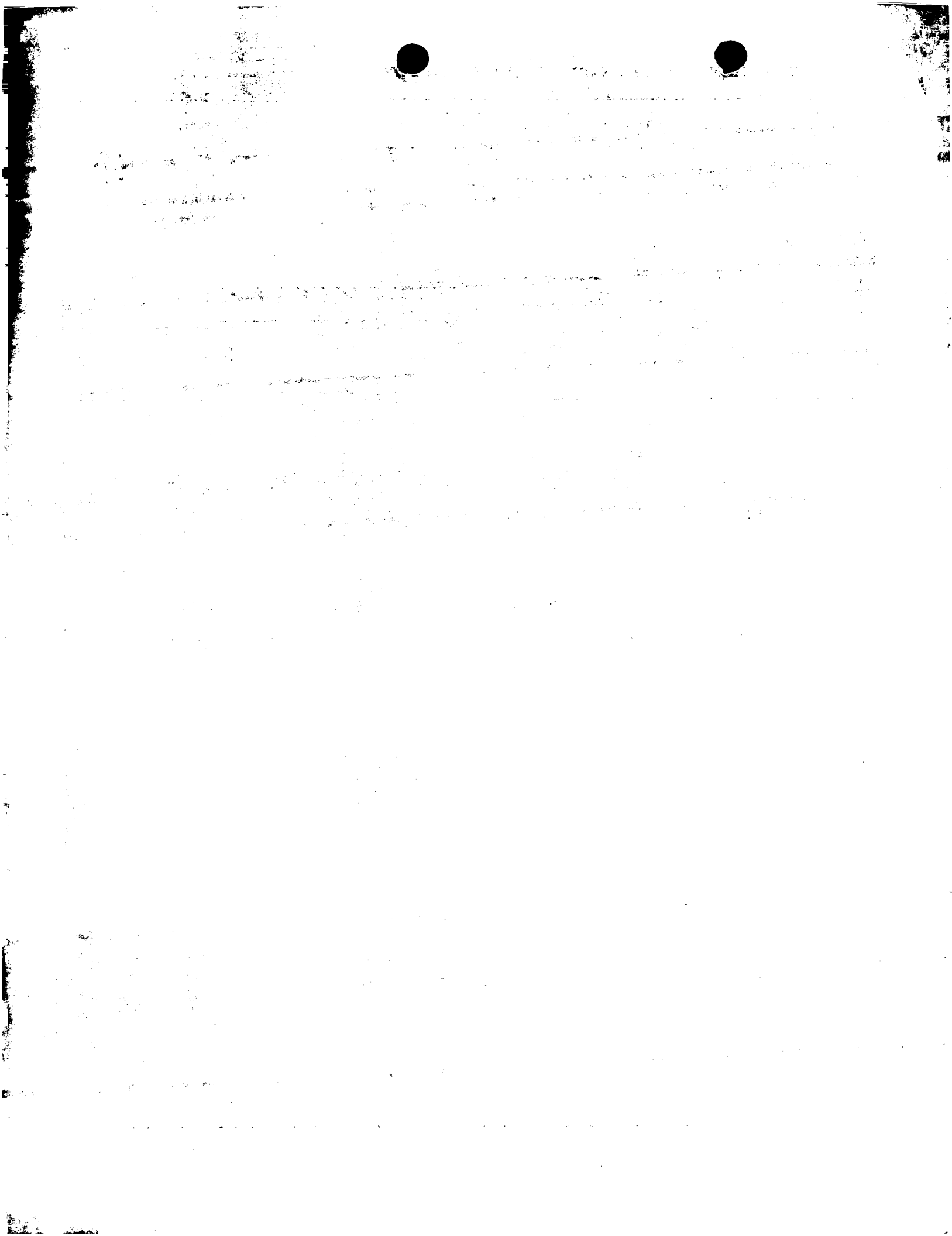
☐ the description, pages _____

☐ the claims, Nos. _____

☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/DE 99/04099

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1.	Statement				
	Novelty (N)	Claims	1-15		YES
		Claims			NO
	Inventive step (IS)	Claims	1-15		YES
		Claims			NO
	Industrial applicability (IA)	Claims	1-10		YES
		Claims	11-15: see Box VIII		NO

2. Citations and explanations

The subject matter of the present claims appears to be novel since the available prior art does not describe a vector as per Claim 1. On condition that the claimed vector can in fact be used in cancer therapy - see Box VIII, point 1 - the subject matter of the present claims also appears to be inventive since it was not possible to derive a use of the claimed vector in cancer therapy from the available documents.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

- 1). Claims 11-15 are not supported by the description of the present application (PCT Article 6) since the application does not contain any data which would suggest the use of the claimed vector for therapeutic treatment (of cancer) (see also PCT Guidelines, Ch. III, 6.1 and 6.3).
- 2). Claims 11-15 relate to subject matter which, in the opinion of the Examining Authority, comes under PCT Rule 67.1(iv). Consequently, an expert opinion has not been established with respect to the industrial applicability of the subject matter of these claims (PCT Article 34(4)(a)(i)).

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18, sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts PCT/MDC 9819	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 99/ 04099	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 27/12/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 29/12/1998
Anmelder MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 5 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

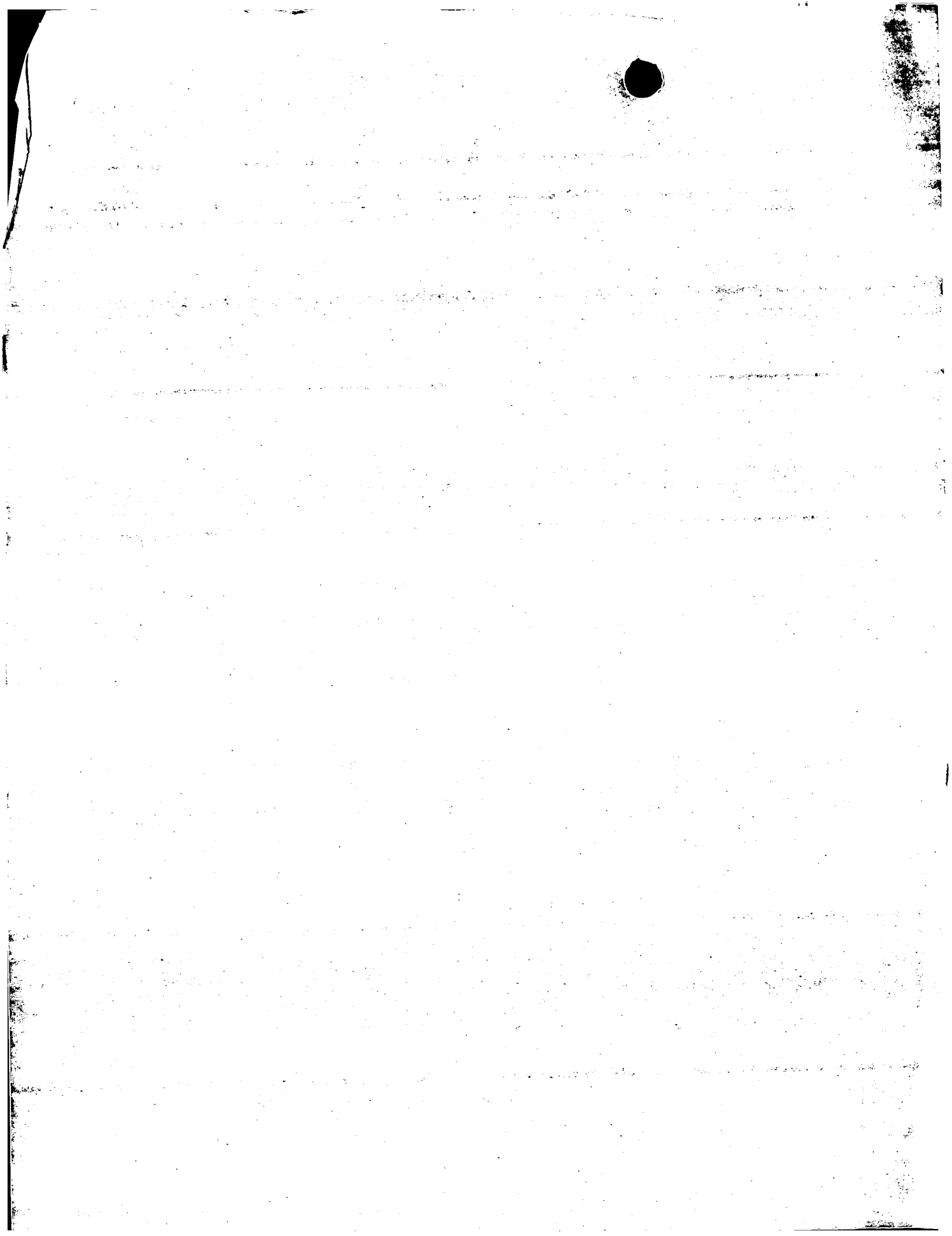
6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☒ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl die Ansprüche 11-14 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

Obwohl die Anspruch 15 sich auf ein Diagnostizierverfahren, das am menschlichen/tierischen Körper vorgenommen wird, beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

PCT/DE 99/04099

IPK 7 C12N15/86 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/47

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N A61K A61P C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

van Klompenburg, W

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A ✓	WO 96 25507 A (COWAN KENNETH ; SETH PREM K (US); US HEALTH (US)) 22. August 1996 (1996-08-22) Seite 4, Zeile 12 - Zeile 21; Ansprüche 1-46; Abbildung 1 -----	1-15
A ✓	WO 98 21350 A (ROTH JACK A ; FANG BINGLIANG (US); UNIV TEXAS (US)) 22. Mai 1998 (1998-05-22) Seite 4, Zeile 23 - Seite 5, Zeile 8 Seite 33, Zeile 21 - Seite 39, Zeile 4 Ansprüche 1-41; Abbildung 6; Tabellen 1,2 -----	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 99/04099

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4238778	A	19-05-1994	WO 9411522 A	26-05-1994
			EP 0670904 A	13-09-1995
			JP 9504161 T	28-04-1997
			US 5968735 A	19-10-1999
WO 9625507	A	22-08-1996	AU 5297496 A	04-09-1996
WO 9821350	A	22-05-1998	AU 5253998 A	03-06-1998

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ :C12N 15/86, A61K 48/00, A61P 35/00,
C07K 14/47

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/39317

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum:

6. Juli 2000 (06.07.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE99/04099

(22) Internationales Anmeldedatum: 27. Dezember 1999
(27.12.99)

(30) Prioritätsdaten: 198 60 602.8 ✓ 29. Dezember 1998 (29.12.98) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):
MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE
MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125
Berlin (DE).(71)(72) Anmelder und Erfinder: DÖRKEN, Bernd [DE/DE]; Ly-
ckallee 47, D-14055 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WOLFF, Gerhard [DE/DE];
Gethsemanestrasse 5, D-10437 Berlin (DE). ROYER,
Hans-Dieter [DE/DE]; Hüniger Strasse 52h, D-14191
Berlin (DE). WOISCHWILL, Christiane [DE/DE]; Lehder
Strasse 72, D-13086 Berlin (DE). JANZ, Martin [DE/DE];
Soldiner Strasse 30, D-13359 Berlin (DE). SCHU-
MACHER, Axel [DE/DE]; Charlottenstrasse 38, D-13156
Berlin (DE).(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Strasse 10,
D-13125 Berlin (DE).(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE,
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen
eintreffen.

(54) Title: GENE TRANSFER VECTOR FOR THE DIAGNOSIS AND THERAPY OF MALIGN TUMORS

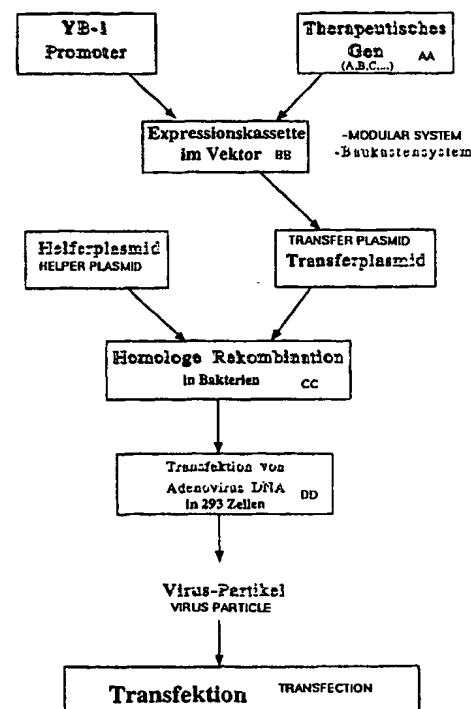
(54) Bezeichnung: GENTRANSFERVEKTOR FÜR DIE DIAGNOSTIK UND DIE THERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN

(57) Abstract

The invention relates to a gene transfer vector for the diagnosis and the therapy of malign tumors which codes for any transgene under the control of the tumor-specific YB-1 promoter. Said transgenic vector consists of the YB-1 promoter, a transgene and two multiple cloning sites for restriction enzymes that surround the transgene which cloning sites are suitable for cutting out the transgene. Any gene can be cloned into the construct for its tissue-specific expression in chemo-resistant tumor cells.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Gentransfervektor für die Diagnostik und die Therapie von malignen Tumoren, der für ein beliebiges Transgen unter Kontrolle des tumorspezifischen YB-1 Promotors kodiert. Er besteht aus dem YB-1 Promotor, einem Transgen und zwei zum Herausschneiden des Transgens geeigneten "Multiple cloning sites" für Restriktionsenzyme, die das Transgen umgeben. In das Konstrukt kann ein beliebiges Gen hineinkloniert werden, um gewebsspezifisch in chemoresistenten Tumorzellen exprimiert zu werden.



AA...THERAPEUTIC GENE (A, B, C,...)
BB...EXPRESSION CASSETTE IN THE VECTOR
CC...HOMOLOGOUS RECOMBINATION IN BACTERIA
DD...TRANSFECTION OF ADENOVIRUS DNA IN 293 CELLS

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Gentransfervektor für die Diagnostik und die Therapie von malignen Tumoren

Die Erfindung betrifft einen neuen Gentransfervektor und seine Verwendung, insbesondere zur Behandlung von chemoresistenten Tumorzellen.

Bekanntermaßen sind etwa 50% aller Tumoren nicht behandelbar, da diese "multi-drug resistant" sind. So können z.B. Brustkrebszellen entweder primär resistent gegen Chemotherapie sein oder können diese Resistenz nach anfangs erfolgreicher Behandlung in einer späteren Phase entwickeln (sekundäre Therapieresistenz).

Ein solcher resistenter Phänotyp kann durch die Überexpression eines Transporterproteins zustande kommen. Dieses sogenannte *P-Glycoprotein* bildet als Transmembranprotein eine Art Pumpe für u.a. Chemotherapeutika, wodurch diese zurück in den extrazellulären Raum transportiert werden. Das *P-Glycoprotein* wird durch das MDR-1 ("Multi-drug-resistance") Gen kodiert, das auf transkriptioneller Ebene durch das YB-1 Bindungsprotein reguliert wird, indem dieses an der "Y-box" innerhalb der DNA Sequenz des MDR-1 Gens bindet (Van Veen and Konings et al, 1997, Sem Cancer Biol, 8, 183-191).

Der YB-1 Promotor kontrolliert die Expression des YB-1 Proteins, welches zur Familie der "Y-box" Bindungsproteine gehört. Diese Y-box Faktoren gehören einer hoch konservierten Klasse von Proteinen an, die in der Regulation von *Transkription* und *Translation* eine Rolle spielen. Die Proteine binden an eine Sequenz innerhalb der DNA eines Zielgens (die sogenannte Y-box Sequenz) wodurch es zur Expression dieses Gens kommt (Bargou et al, 1997, Nat Med, 3, 447-450).

YB-1 ist im Rahmen der Zellproliferation verstärkt exprimiert und kann durch genotoxische Substanzen, z.B. Chemotherapeutika, UV Licht und ionisierende Strahlen induziert werden (Koike et al, 1997, Febs Lett, 417, 390-394). Außerdem konnte festgestellt werden, daß die Expression von YB-1 in proliferierenden Zellen wie embryonalen und regenerierenden Geweben wesentlich erhöht ist, während dieser Zustand sich bei Gewebedifferenzierung umkehrt (Grant and Deeley, 1993, Mol Cell Biol, 12, 4186-4196, Spitkovsky et al, 1992, Nucleic Acids Res, 20, 797-803).

Eigene Studien konnten zeigen, daß die Überexpression des MDR-1 Gens in Brustkrebszellen und die damit zusammenhängende intrinsische Multidrug Resistenz mit der Aktivität und Lokalisation des YB-1 Proteins zusammenhängen (Bargou et al, 1997, Nat Med, 3, 447-450).

Bei vorhandener Chemoresistenz ist es also nötig, eine Alternative zum Gebrauch von Chemotherapeutika zu finden.

Bekanntermaßen wird Gentherapie für die Behandlung von erworbenen und vererbten Krankheiten eingesetzt, wobei es um den Transfer eines therapeutischen Gens, wie z.B. eines Tumorsuppressorgens, geht. Verschiedene Vektorsysteme stehen dabei zur Verfügung, um beim Gentransfer einen möglichst hohen Anteil der Zellen des Zielgewebes zu erreichen. Hierbei sind virale Vektoren bisher am geeignetsten. Adenovirale Vektoren werden zunehmend häufiger eingesetzt, da sie mit einer großen Effektivität eine Anzahl von Tumorgeweben infizieren können. Diese Vektoren enthalten eine jeweils spezifische Expressionskassette (EK), die durch die adenovirale Infektion in die Zielzelle gelangt. Diese Expressionskassette besteht aus einem Promotor und einem therapeutischem Gen, wobei der Promotor für die Expression des Gens in den Zielzellen sorgt. Häufig zum Einsatz kommende Promotoren sind z.B. SV40, RSV und CMV (Sandig et al, 1997, Nat med, 3, 313-319).

Die Tatsache, daß Adenoviren viele Gewebstypen infizieren können, ist einerseits ein Vorteil dieses Gentransfersystems. Gewöhnliche adenovirale Strategien sind andererseits bei gewissen Krankheiten/Therapien nicht ausreichend. Es ist also nötig, Verfahren zu entwickeln, bei denen die Genexpression nur auf bestimmte Zellen beschränkt wird. Dies kann durch *gewebsspezifische Promotoren* erreicht werden. Durch den Einsatz von z.B. tumorspezifischen Promotoren wird die Möglichkeit geschaffen, das therapeutische Gen nur im Tumorgewebe zu exprimieren und nicht in angrenzendem auch infizierten normalen Gewebe (Robbins et al, 1998, Trends Biotechnol, 16, 35-40). Hiermit erhöht sich die Zielgenauigkeit des Gentransfers, wodurch es möglich wird, auch solche therapeutischen Gene einzusetzen, die für die normalen Zellen schädlich sind.

Der Erfindung lag deshalb die Aufgabe zugrunde, einen Vektor mit einer Expressionskassette zu entwickeln, die einen tumorspezifischen Promotor enthält, der zielgerichtet nur in chemoresistenten Tumorzellen ein relevantes Gen exprimiert. Dieser Gentherapievektor soll also in Tumorzellen zum Einsatz kommen, die schon chemoresistent und damit auf eine konventionelle Chemotherapie nicht mehr ansprechen.

Die Kassette soll zum einen so konstruiert sein, daß sie in verschiedene Gentransfervektoren, wie z.B. in adenovirale Vektoren, hineinkloniert werden kann. Zum anderen soll es gleichzeitig möglich sein, die verschiedensten therapeutischen Gene ohne großen technischen Aufwand "downstream" vom Promotor in diese Kassette hineinzuklonieren.

Die Aufgabe wird gemäß den Patentansprüchen durch einen Vektor gelöst, der die folgenden Bestandteile hat: den YB-1 Promotor, ein Transgen und zwei "Multiple cloning sites" (MCS). Hierbei soll der tumorspezifische YB-1 Promotor in chemoresistenten Tumorzellen durch adenoviralen Gentransfer ein

Transgen zur Expression bringen. Dieses Transgen kann ein therapeutisch relevantes, wie z.B. ein Apoptose-induzierendes Gen sein, wodurch ein Absterben der Tumorzellen eingeleitet wird. Es kann auch ein "Prodrug converting enzyme" sein, das ein bestimmtes von außen zugefügtes Molekül ("prodrug") in einen pharmakologisch aktiven Stoff umwandelt, der dann seine therapeutische Wirkung auf die Tumorzellen auswirkt. Weiterhin können auch zwei verschiedene therapeutisch relevante Gene in einem sogenannten Doppelgentransfer unter die Kontrolle des YB-1 Promotors gestellt werden. Der YB-1 Promotor ist dabei in eine dementsprechend angepasste MCS eines Vektors kloniert. Diese ist dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Anzahl ausgewählter Restriktionsenzym-Schnittstellen (RES) enthält, die es zulassen, ein neues therapeutisches Gen "downstream" des Promotors in die Expressionskassette zu klonieren, ohne daß am restlichen Vektor bzw. am sich schon im Vektor befindlichen YB-1 Promotor Veränderungen vorgenommen werden müssen.

Der neue Gentransfervektor ist zur Behandlung von Tumoren einsetzbar. Bevorzugt eignet er sich zur Behandlung von chemoresistenten Tumoren. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit besteht in der Diagnostik (Mikrolokalisation von Tumoren).

AUSFÜHRUNGSBEISPIEL 1

Zunächst wird das entsprechende therapeutische Gen hinter den YB-1 Promotor (Nukleotid 259-294 der MCS des pCR2.1 Vektors von Invitrogen und Nukleotid 453-2150 der YB-1 Promotor-Sequenz, Genbank Acc.# X96666) kloniert. Diese beiden Elemente stellen die Expressionskassette dar (siehe Abb. 1). Hierbei wird der YB-1 Promotor so in eine speziell für diese Zwecke angepasste MCS eines Vektors kloniert, daß verschiedene therapeutische Gene unter die Kontrolle des Promotors gesetzt werden können, ohne daß die MCS erneut angepasst werden muß. Dabei handelt es sich um eine MCS, die eine Gruppe speziell ausgewählter RES enthält. Diese Schnittstellen sollen einen schnellen und unkomplizierten Austausch der therapeutischen Gene "downstream" vom Promotor in die Expressionskassette zulassen. Zusätzliche Veränderungen am restlichen Vektor bzw. am schon vorhandenen YB-1 Promotor werden hierdurch vermieden. Es entsteht somit eine Art "Baukastensystem", in dem die therapeutischen Gene unter geringem Aufwand auswechselbar sind (siehe Abb.2).

Die den YB-1 Promotor und das therapeutische Gen enthaltende Expressionskassette wird dann in ein sogenanntes Transferplasmid (TP) hineinkloniert. Dieses Plasmid enthält einen Teil des adenoviralen Genoms. Für diesen Schritt werden die RES der MCS genutzt, die die EK umgeben und die auch im Transferplasmid vorhanden sind. Das TP wird dann zusammen mit dem "Helferplasmid" (HP) in Bakterien (BJ Zellen) transformiert. Das Helferplasmid

besitzt bis auf die E1- und E3-Region das gesamte adenovirale Genom, wobei die E1 Deletion den Virus replikationsdefizient macht. Da die adenoviralen Genomabschnitte, die die EK im TP umgeben, eine Homologie mit bestimmten Abschnitten des Genoms des HP aufweisen, wird durch homologe Rekombination in den BJ Zellen ein rekombinantes adenovirales Plasmid generiert, das die Expressionskassette enthält (siehe Abb.3). Durch Gentransfertechniken, wie z.B. Calciumphosphat-Präzipitation oder Liposomen, wird dieses rekombinante adenovirale Plasmid dann in eine Produktionszelllinie (293; humane, embryonale Nierenzelllinie) eingebracht, um zur Produktion von replikationsdefizienten Viren zu führen. Diese enthalten das therapeutische Gen unter der Kontrolle des tumorspezifischen YB-1 Promotors. Danach werden in unterschiedlichen Mausstämmen (SCID und nude Mäuse) Tumore chemoresistenter Zelllinien (z.B. epithelialen Ursprungs) etabliert, die dann mit dem rekombinanten Virus infiziert werden. Die Messung der Transgenexpression durch z.B. ELISA- und immunhistochemische Techniken und seine Wirkung auf den Tumor werden dann in Hinsicht auf einen möglichen therapeutischen Ansatz analysiert.

AUSFÜHRUNGSBEISPIEL 2

Die Erfindung wurde in einem Tiermodell auf die proliferationsspezifische Aktivität des YB-1 Promotors in vivo überprüft. Es ist bekannt, daß adenovirale Vektoren Hepatozyten am dritten Tag nach Vektorapplikation in die Proliferation treiben. Daher wurden zwei adenovirale Vektoren mit humanem alpha 1-Antitrypsin (hAAT), die sich nur durch den Promotor unterscheiden (AdYB-1.hAAT bzw. AdRSV.hAAT) in einem Lebergentransfermodell in SCID Mäusen verglichen.

Der konstitutive Promotor führte zu einem kontinuierlichen Anstieg des Serumgehalts von hAAT (Abb. 4A). Im Gegensatz dazu führte der Ad-Vektor mit dem YB-1 Promotor zu einer temporär sehr starken Expression mit einem maximalen Serumgehalt von hAAT am dritten Tag (Abb. 4B).

$1,0 \times 10^9$ pfu AdRSV.hAAT (A) bzw. AdYB-1.hAAT (B) wurde intravenös in SCID Mäuse injiziert (n=3 für A und B). Der Serumgehalt von humanem alpha 1-Antitrypsin (hAAT) wurde durch ELISA ermittelt.

Hiermit konnte die proliferationsspezifische Aktivität des YB-1 Promotors nachgewiesen werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Gentransfervektor, bestehend aus
 - dem YB-1-Promoter, seinen Mutanten oder Deletionsvarianten,
 - einem Transgen oder der cDNA eines Transgens
 - zwei zum Herausschneiden des Transgens geeigneten Multiclونingsites(MCS) für Restriktionsenzyme, die das Transgen umgeben.
2. Gentransfervektor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Transgen ein therapeutisches Gen ist.
3. Gentransfervektor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Transgen ein Reportergen ist.
4. Gentransfervektor nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß das therapeutische Gen ein zellzyklusregulierendes oder ein proapoptotisches Gen ist.
5. Gentransfervektor nach Anspruch 1, 2 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß als therapeutisches Gen p16, p21, p53 oder Bax eingesetzt wird.
6. Gentransfervektor nach Anspruch 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich ein regulierendes Element in den Vektor eingebracht wird.
7. Gentransfervektor nach Anspruch 1-6, dadurch gekennzeichnet, daß die Multiclونingsites (MCS) für Restriktionsenzyme mindestens 3 Restriktionsenzymstnittstellen (RES) enthalten.
8. Gentransfervektor nach Anspruch 1-7, dadurch gekennzeichnet, daß die Multiclونingsites (MCS) für Restriktionsenzyme 5-10 Restriktionsenzymstnittstellen (RES) enthalten.
9. Gentransfervektor nach Anspruch 1-8, dadurch gekennzeichnet, daß die Multiclونingsites (MCS) für Restriktionsenzyme keine Restriktionsenzymstnittstellen (RES) enthalten, die innerhalb der Sequenzen des YB-1-Promoters vorkommen.
10. Gentransfervektor nach Anspruch 1-9, dadurch gekennzeichnet, daß die Multiclونingsites (MCS) für Restriktionsenzyme sticky-RES und blunt-RES enthalten.
11. Verwendung des Vektors nach Anspruch 1-10 zur Behandlung von Tumoren.

12. Verwendung des Vektors nach Anspruch 1-10 zur Behandlung von chemoresistenten Tumoren.
13. Verwendung des Vektors nach Anspruch 1-10 zur Behandlung von chemosensitiven Tumoren.
14. Verwendung des Vektors nach Anspruch 1-10 zur Behandlung von Brustkrebs.
15. Verwendung des Vektors nach Anspruch 1-10 zur Mikrolokalisierung von Tumoren.

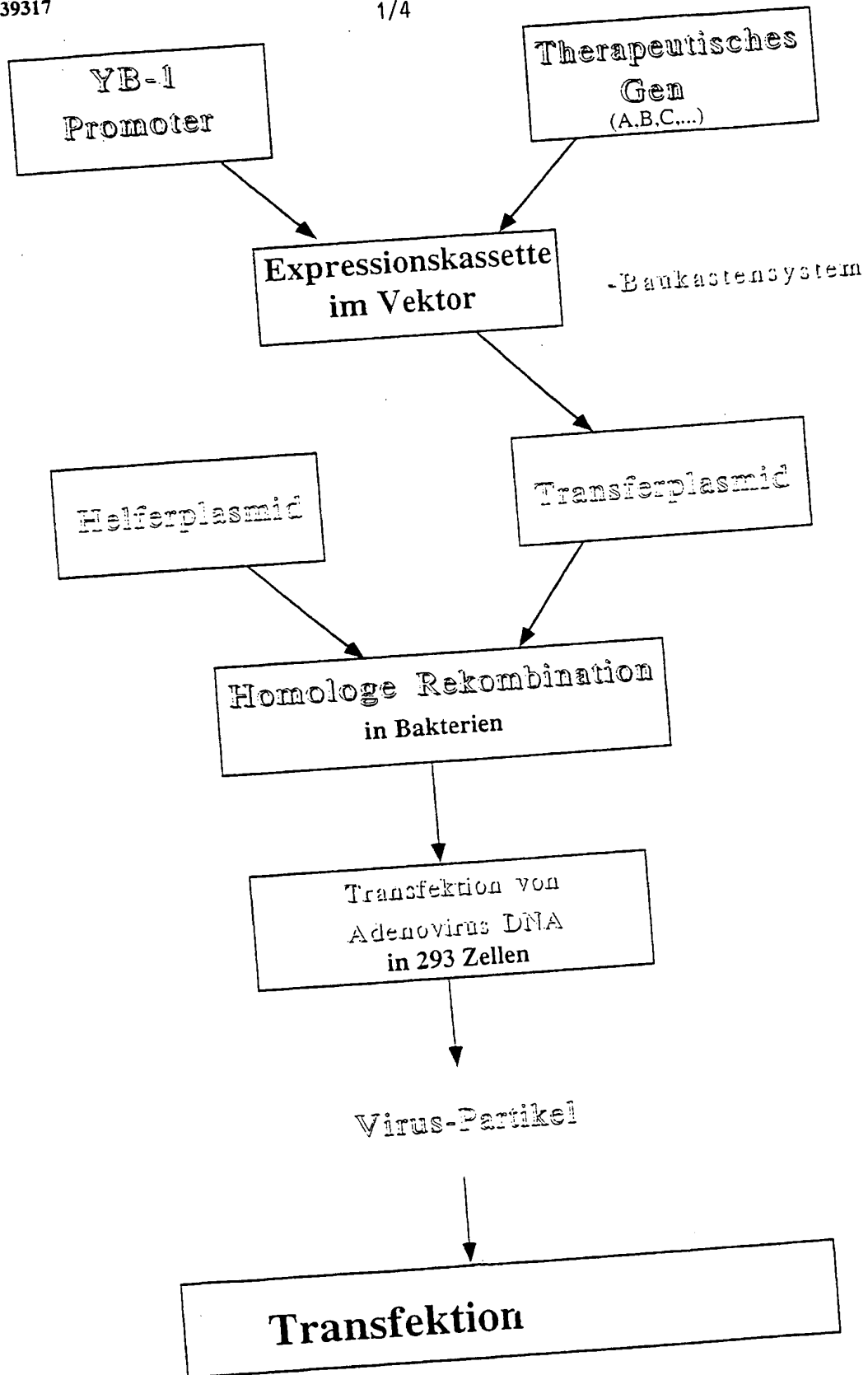
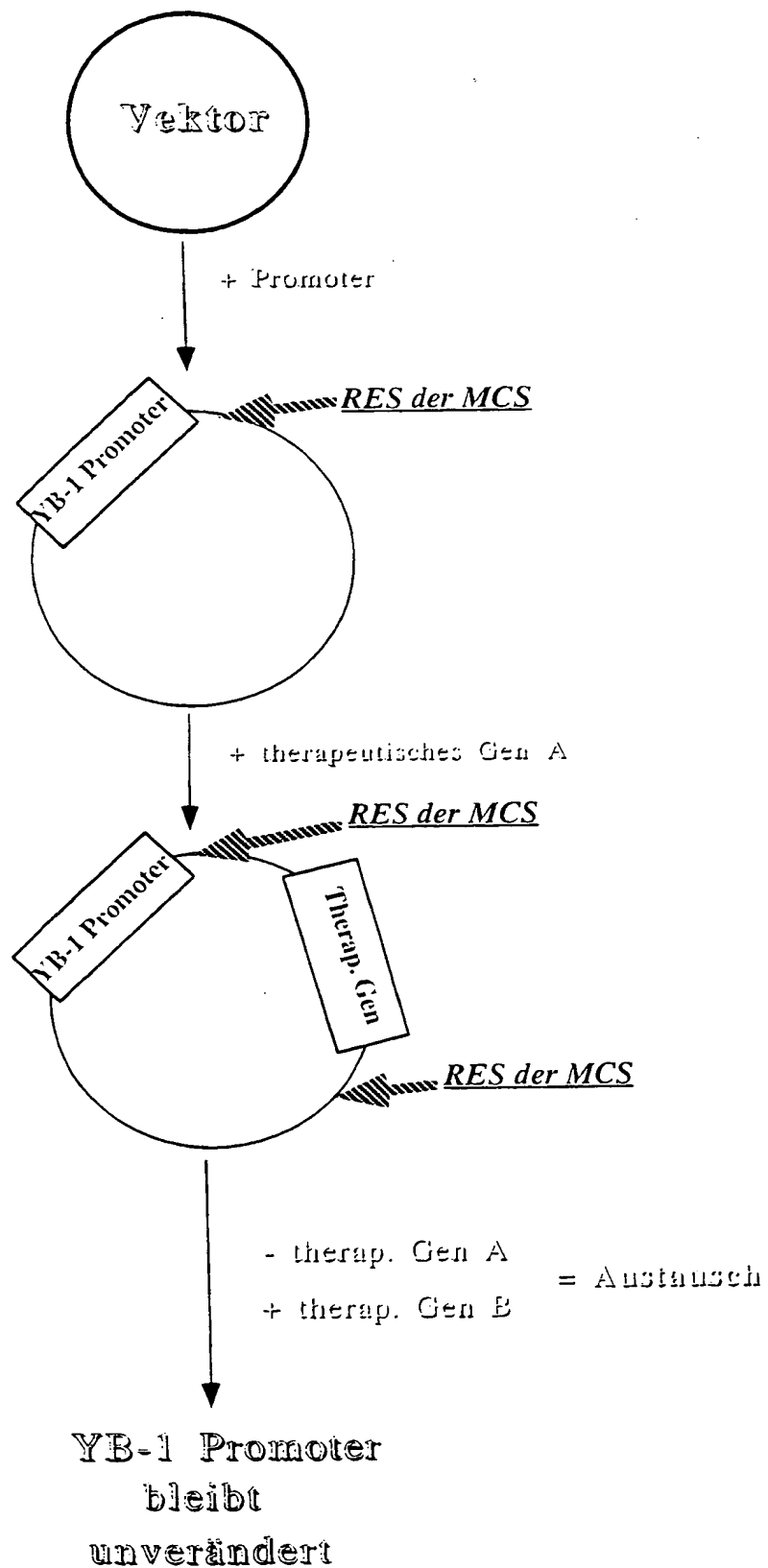
Abb. 1



Abb. 2

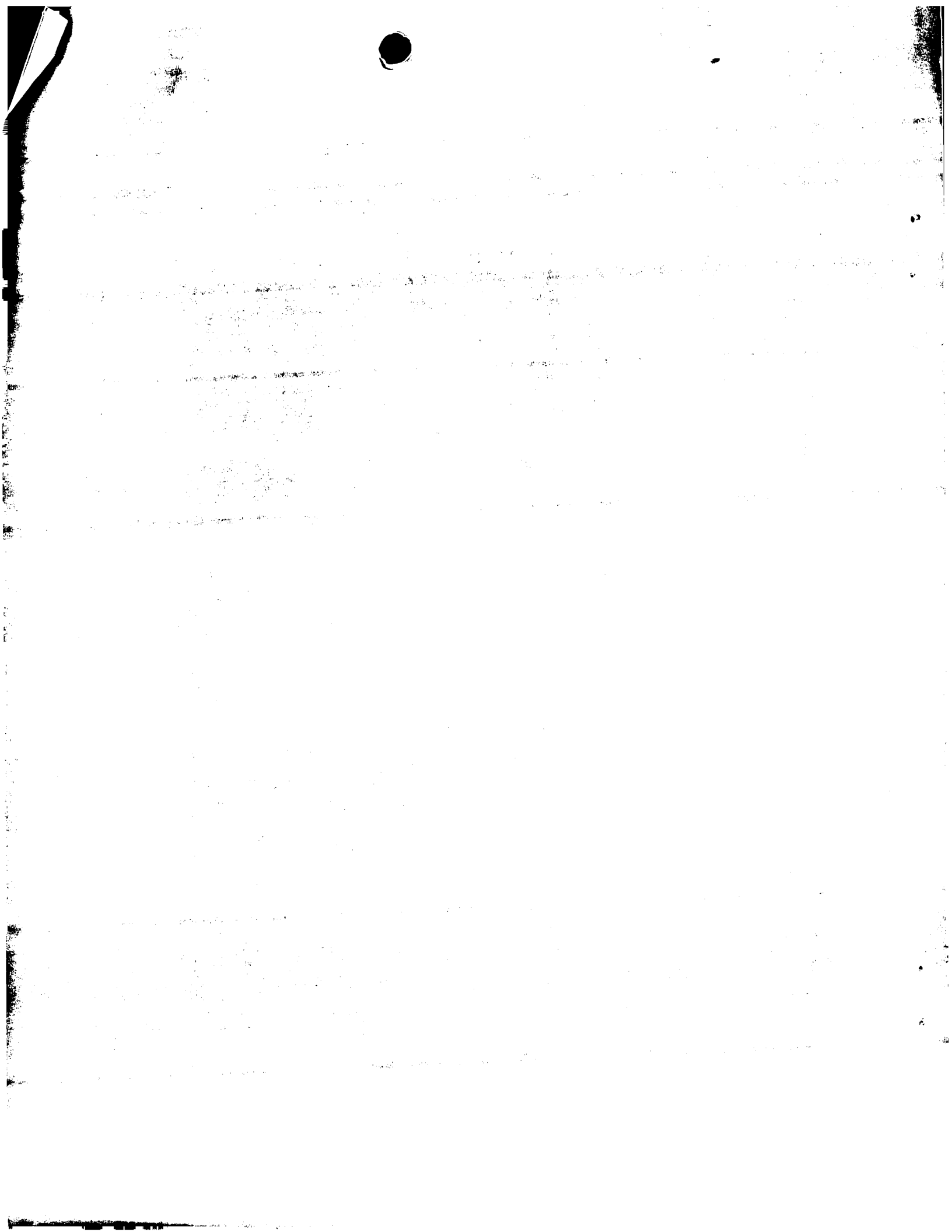
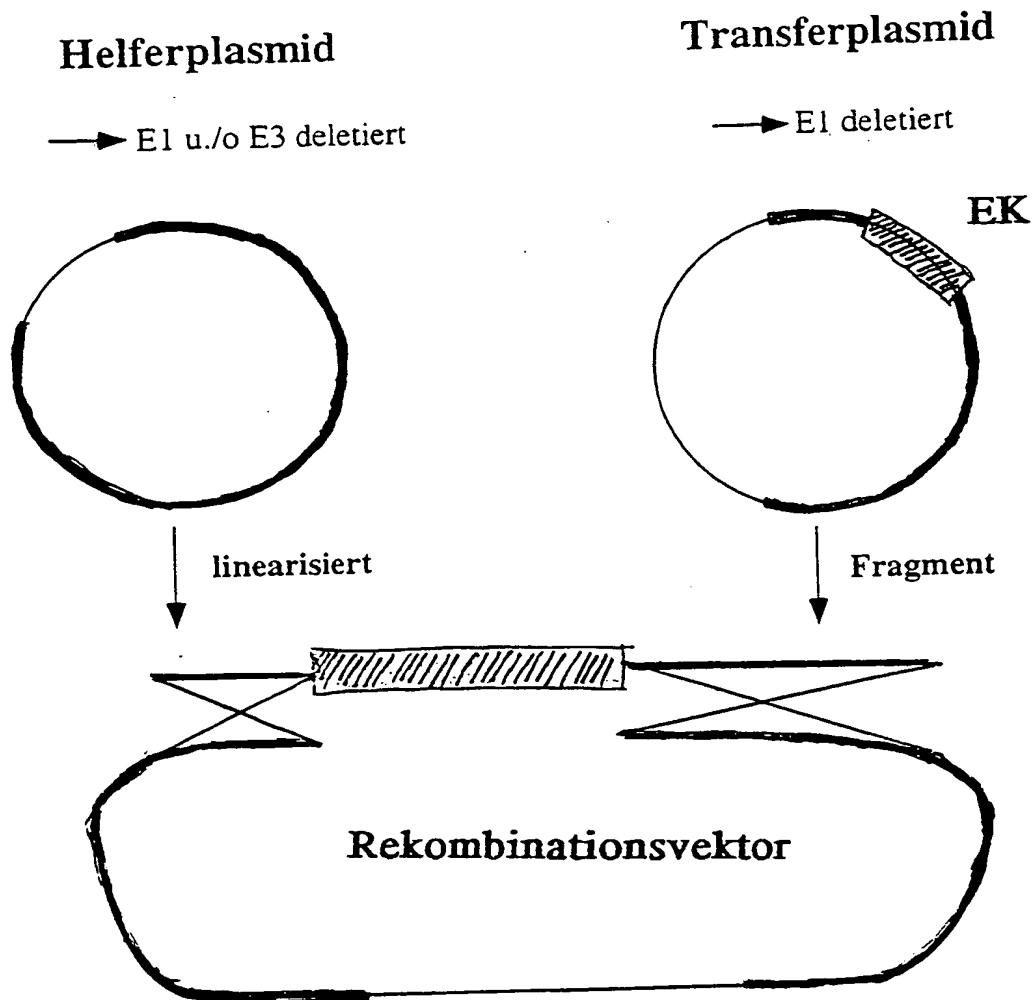


Abb. 3**Homologe Rekombination im Bakterium**

EK (Expressionskassette)



adenovirales Genom



Plasmidanteil

Abb. 4 A

AdRSV.hAAT

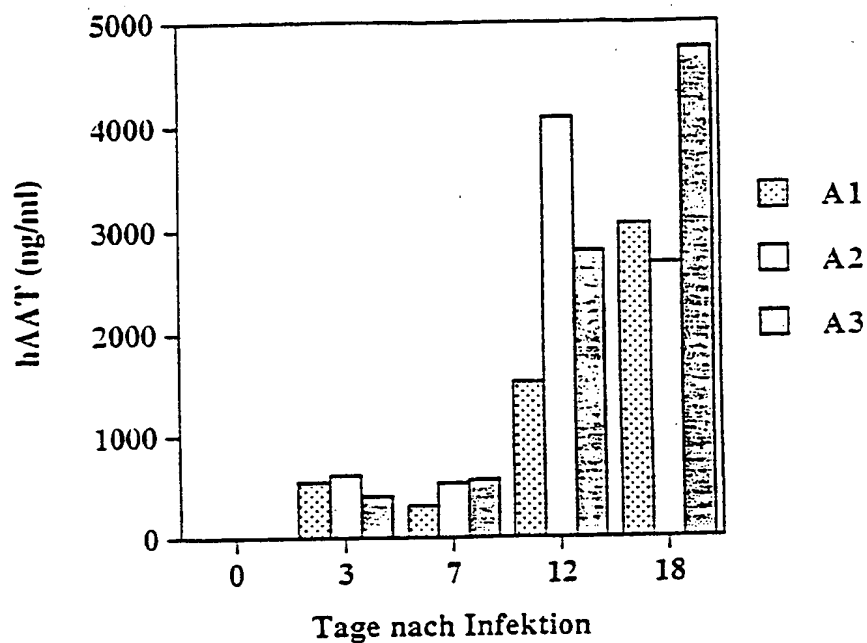
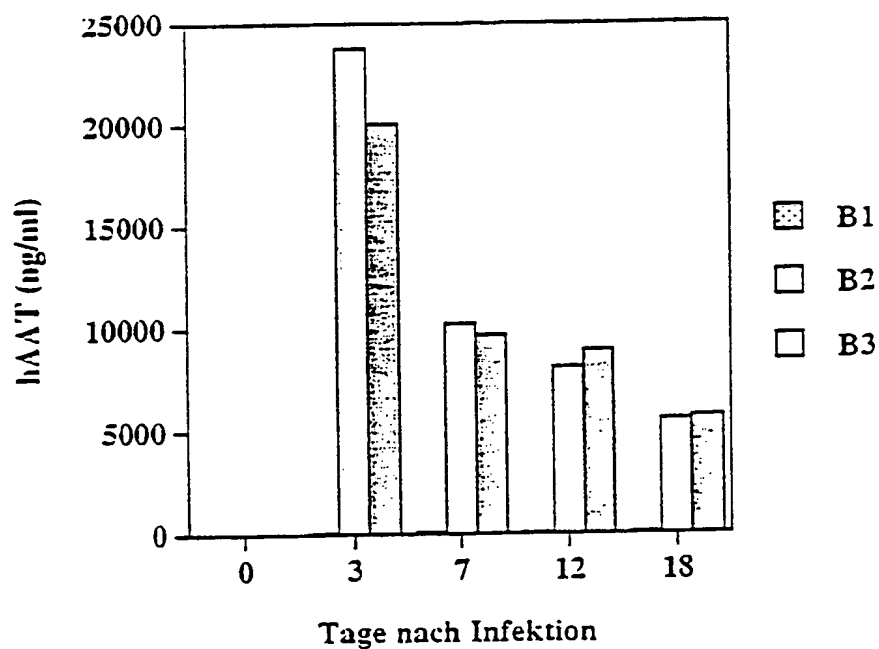


Abb. 4 B

AdYB-1.hAAT



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/DE 99/04099

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/86 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/47

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N A61K A61P C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MAKINO ET AL.: "Structural and functional analysis of the human Y-box binding protein (YB-1) gene promoter" NUCLEIC ACID RESEARCH, vol. 24, no. 10, 1996, pages 1873-1878, XP002138659	1,3, 6-10,15
A	page 1874, column 1; figure 3	2,4,5, 11-14
A	page 1877, column 2	
	DE 42 38 778 A (MAX DELBRUECK CT FUER MOLEKULA) 19 May 1994 (1994-05-19) page 2, line 23 - line 40; claims 1,2; figure 1; examples 1,2	1-15
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 May 2000

Date of mailing of the international search report

14/06/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

van Klompenburg, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. nal Application No

PCT/DE 99/04099

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 96 25507 A (COWAN KENNETH ; SETH PREM K (US); US HEALTH (US)) 22 August 1996 (1996-08-22) page 4, line 12 - line 21; claims 1-46; figure 1 -----	1-15
A	WO 98 21350 A (ROTH JACK A ; FANG BINGLIANG (US); UNIV TEXAS (US)) 22 May 1998 (1998-05-22) page 4, line 23 - page 5, line 8 page 33, line 21 - page 39, line 4 claims 1-41; figure 6; tables 1,2 -----	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter. Application No

PCT/DE 99/04099

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4238778 A	19-05-1994	WO 9411522 A EP 0670904 A JP 9504161 T US 5968735 A	26-05-1994 13-09-1995 28-04-1997 19-10-1999
WO 9625507 A	22-08-1996	AU 5297496 A	04-09-1996
WO 9821350 A	22-05-1998	AU 5253998 A	03-06-1998



PCT/DE 99/04099

Seite 1 von 2

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/04099

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 96 25507 A (COWAN KENNETH ;SETH PREM K (US); US HEALTH (US)) 22. August 1996 (1996-08-22) Seite 4, Zeile 12 - Zeile 21; Ansprüche 1-46; Abbildung 1 -----	1-15
A	WO 98 21350 A (ROTH JACK A ;FANG BINGLIANG (US); UNIV TEXAS (US)) 22. Mai 1998 (1998-05-22) Seite 4, Zeile 23 -Seite 5, Zeile 8 Seite 33, Zeile 21 -Seite 39, Zeile 4 Ansprüche 1-41; Abbildung 6; Tabellen 1,2 -----	1-15

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/04099

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 4238778 A	19-05-1994	WO 9411522 A	26-05-1994
		EP 0670904 A	13-09-1995
		JP 9504161 T	28-04-1997
		US 5968735 A	19-10-1999
WO 9625507 A	22-08-1996	AU 5297496 A	04-09-1996
WO 9821350 A	22-05-1998	AU 5253998 A	03-06-1998

